

EUROPEAN PATENT OFFICE

Patent Abstracts of Japan

PUBLICATION NUMBER : 09224672
 PUBLICATION DATE : 02-09-97

APPLICATION DATE : 21-02-96
 APPLICATION NUMBER : 08033973

APPLICANT : MITSUI GYOSAI SHOKUBUTSU BIO
 KENKYUSHO:KK;

INVENTOR : OTA HIROYUKI;

INT.CL. : C12N 15/09 A01H 5/00 C07H 21/04
 C07K 14/415 // C12N 5/10 C12Q 1/68

TITLE : DNA CODING NEW DNA-CONNECTED
 PROTEIN

TCACACAGGG CAACTTTCGT CTTCATACCC CAAACCTAAC CAGGTATCAI CTTCCTAICT
 TICCTAAATT TCACTCAGTC AGAAIATTIG TCACTTAATT TCGAAATTTC ATTTCGAGAG
 TIGAGACTTA GACATGTTAA TTTCACCTT AGGGTTCAGG TTATCATCAA TCTTTCATT
 TICAATCTGA TGAATTGGAT TTGAATTTC ATCTCTCAGT TAGCCAAACGA TCGATTAGAG
 TTTCGACGCA CGATGAGTC GAAAGAGGGA AGCAGGAGCC GCAATTCAGGG CTCCCTCGTC
 GTCAGGAGTC GATTCGTAATGATGTCAGGTTGCTCCAA TCCAAGAAAG CCCAAGAAGG
 GATCATCTTC GAATTCGAGG CACCAETCTA ATTTCGCTCA GCTGCTGCAAG GAGATTCAAGG
 ACAAGCTGT CAAACGAGCT GTCGAATGC ATG ATI TGT TAT GAC ATG GTG CGC
 Met Ile Cys Tyr Asp Met Val Arg

1 5

GGG GGG CAG CCT GCA CGA AAC TTT GAT GCT TIG GAA GCT TCT GAT GIA
 Gly Gly Gln Pro Ala Gly Asn Phe Asn Ala Leu Glu Ala Ser Asp Val
 955 960 965
 GTC GAT GAT TGG CAG AAC GCT TGT GAA TAGCAAGGAG TAAACATTIT
 Val Asp Asp Ile Glu Lys Ala Cys Glu
 970 975
 TCAATTAAIT ITGTTGAGAA GGAGCCAGAT TTGACTAGT GAAATGTCTA AGGCTCTTT
 TGTCACATAG ATGATATCTCT TTTCATGTTT TATCCCCCTG ATTTCATCA ATTTCGATG
 TATTCTAA 3460
 3520
 3528

ABSTRACT : PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a DNA as a cysteine-rich DNA connecting protein gene from a gene specifically generating after treating with a jasmonic acid.

SOLUTION: This DNA has an amino acid sequence of the formula and codes a DNA-connecting protein containable substitution, deletion, insertion, addition or transition of more than one amino acid as far as not substantially injuring a DNA connecting activity, and is, e.g., SJIP-2 as one of the gene obtained by a jasmonic acid treatment of a culturing cell of a soybean. The DNA connecting protein is considered as a factor controlling manifestation of a gene induced by jasmonic acid and is useful for producing a plant strong against a pathogenic fungus, producing a useful secondary metabolite and suppressing generation of a toxic secondary metabolite, etc.

COPYRIGHT: (C)1997,JPO

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平9-224672

(43)公開日 平成9年(1997)9月2日

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 N 15/09	Z NA	9282-4B	C 1 2 N 15/00	Z N A A
A 0 1 H 5/00			A 0 1 H 5/00	A
C 0 7 H 21/04			C 0 7 H 21/04	B
C 0 7 K 14/415			C 0 7 K 14/415	
// C 1 2 N 5/10		7823-4B	C 1 2 Q 1/68	A
			審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 13 頁)	最終頁に続く

(21)出願番号 特願平8-33973

(22)出願日 平成8年(1996)2月21日

(71)出願人 591068458

株式会社三井業際植物バイオ研究所
東京都港区赤坂2-5-27 八千代ビル4
F

(72)発明者 柴田 大輔

茨城県つくば市千現2-1-6 つくば研究支援センターD-6 株式会社三井業際植物バイオ研究所内

(72)発明者 加藤 友彦

茨城県つくば市千現2-1-6 つくば研究支援センターD-6 株式会社三井業際植物バイオ研究所内

(74)代理人 弁理士 遠山 勉 (外3名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 新規なDNA結合タンパク質をコードするDNA

(57)【要約】

【課題】 ジャスモン酸を用いた遺伝子の発現制御を行うために、ジャスモン酸により誘導されるDNA結合タンパク質をコードする遺伝子を単離する。

【解決手段】 大豆の培養細胞にジャスモン酸処理を行い、ジャスモン酸処理細胞と無処理の培養細胞から調製したRNAからcDNAを合成し、各々をゲル電気泳動し、ジャスモン酸処理細胞由来のcDNAのみに認められ、無処理の培養細胞由来のcDNAには認められないバンドをゲルから抽出することによって、DNA結合タンパク質をコードしているDNAを得る。

110	C-PHLCSVLOCHPGPCPPCKAFAPPRLCPC	137
155	CGQRQCOKLLQCGRHCQQICHLGPCHPCQVP1NASCF	192
219	CGSTCQKYLNCGNHIC1ETCHPGSCGDCELLPSRIKTC	256
277	CSQVCGKYLPCG1HHCEEPCHAGDCSPCLVLVSQKCRC	314
373	CQPCGKKLRCGQHACESLCHSGHCPPCLET1FTDLC	410
483	CNKLCGKTRQCGLHACGRTCHLPPCDNLSAVPGIRASC	520
531	C-RHTCTAPCH	540

【特許請求の範囲】

【請求項1】配列表の配列番号2に示すアミノ酸配列を有し、DNA結合活性を実質的に害さない限り1以上のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加又は転移を有してもよいDNA結合タンパク質をコードするDNA。

【請求項2】配列表の配列番号1に示す塩基配列において、塩基番号450～3480で表される塩基配列を有する請求項1記載のDNA。

【請求項3】配列番号1に示す塩基配列に相補的な塩基配列の少なくとも一部を有するDNA。

【請求項4】請求項1記載のDNAで形質転換された植物体。

【請求項5】請求項3記載のDNAで形質転換された植物体。

【請求項6】配列表の配列番号2に示すアミノ酸配列を有し、DNA結合活性を実質的に害さない限り1以上のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加又は転移を有してもよいDNA結合タンパク質。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、新規なDNA結合タンパク質遺伝子に関し、詳しくは、ジャスモン酸で特異的に誘導されるシステインーリッチなDNA結合タンパク質遺伝子およびその利用に関する、

【0002】

【従来の技術】ジャスモン酸は、ジャスミンの花から得られるジャスミン油の香氣成分の一つとして単離された物質であり、ジャガイモの塊茎形成、果実の成熟、植物の病原菌に対する抵抗反応、植物の成長阻害や葉の老化促進、気孔開閉制御などの生理作用を有することが知られている。また、ジャスモン酸によって発現が誘導される多くのタンパク質(jasmonate induced protein; JIP)が見い出され、遺伝情報物質としても知られており、ジャスモン酸を用いた遺伝子発現制御に関する研究も進められている。

【0003】上記のようなジャスモン酸によって誘導される遺伝子産物のなかには、プロテイナーゼインヒビター(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 7713 (1990))、リボゾーム不活性化タンパク質(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, 7012 (1994))、植物貯蔵タンパク質(vegetative storage protein (Plant Sci. 62, 45 (1989))、リホキシゲナーゼ(Plant Cell Physiol. 34, 1063 (1993))、病原菌の攻撃に対する防御機構に関するタンパク質(Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 44, 569 (1993))等のほか、植物の二次代謝産物(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92, 12505 (1995))が存在することが知られている。

【0004】そこで、これらのジャスモン酸で誘導される遺伝子の発現を制御することができれば、病原菌に対する防御物質を蓄積させたり、二次代謝産物の合成量を

増大もしくは減少させたりすることが可能となると考えられる。

【0005】ところで、遺伝子の発現調節には、プロモーター領域に結合するDNA結合タンパク質が関与すると考えられている、そこで遺伝子の発現を制御する1つの方法として、このようなDNA結合タンパク質遺伝子を操作することが考えられる。すなわち、DNA結合タンパク質遺伝子の発現を自由にコントロールすることができれば、それによって調節されているさまざまな遺伝子の発現をコントロールすることができ、いろいろな現象を引き起こすことも可能になると思われる。

【0006】従って、ジャスモン酸により発現が誘導されるDNA結合タンパク質の遺伝子が単離されれば、それを利用することによって、ジャスモン酸により誘導をうける遺伝子の発現をコントロールすることができるとなり、病原菌に強い植物あるいは二次代謝産物の量を増大・減少させた植物を作出することができると考えられる。

【0007】しかしながら、ジャスモン酸によって誘導されるDNA結合タンパク質及びその遺伝子は取得されて知られておらず、そのような遺伝子を利用してジャスモン酸により二次代謝産物の量を制御しようとする試みも当然なされていなかった。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】本発明は上記観点からなされたものであり、ジャスモン酸による遺伝子の発現機構の解析、及びジャスモン酸を用いた遺伝子の発現制御を課題とする。

【0009】

【課題を解決するための手段】本発明者は、ジャスモン酸処理した後に特異的に出現する遺伝子について研究を行ったところ、そのような遺伝子の一つを単離することに成功し、その遺伝子がDNA結合タンパク質遺伝子であることを見出した。

【0010】具体的には、大豆の培養細胞にジャスモン酸処理を行い、ディファレンシャルディスプレイ法によりジャスモン酸で誘導される複数のcDNAクローンを単離し、塩基配列を決定した。そして、これらの内の1つは、ヒトのMHCクラスII遺伝子のプロモーター領域に保存されているX-boxに結合するシステインーリッチDNA結合タンパク質(Cysteine-rich DNA-binding protein; NF-X1)とホモロジーがあることを明らかにし、本発明を完成するに至った。

【0011】すなわち本発明は、配列表の配列番号2に示すアミノ酸配列を有し、DNA結合活性を実質的に害さない限り1以上のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加又は転移を有してもよいDNA結合タンパク質、及びこれをコードするDNAである。ここで、「DNA結合活性」とは、具体的には、本発明のDNA結合タンパク質が遺伝子のプロモーター領域に結合して、その遺伝子の

発現制御に関する性質である。

【0012】上記DNAとして具体的には、例えば配列表の配列番号1に示す塩基配列において、塩基番号450～3480で表される塩基配列を有するDNAが挙げられる。尚、上記塩基配列に限らず、遺伝暗号の縮重による同一のアミノ酸配列をコードする異なる塩基配列を有するDNAも本発明のDNAに含まれる。

【0013】本発明はまた、配列番号1に示す塩基配列(センス配列)に相補的な塩基配列(アンチセンス配列)の少なくとも一部を有するDNAを提供する。さらに本発明は、上記センス配列またはアンチセンス配列を有するDNAで形質転換された植物体を提供する。

【0014】本発明のDNA結合タンパク質は、NF-X1タンパク質と相同性を有している。NF-X1タンパク質は、ヒトのMHC(major histocompatibility complex、MHC: 主要組織適合遺伝子複合体)クラスII遺伝子のプロモーター領域に保存されているN-b0Nに結合するタンパク質であり、同遺伝子を制御するリプレッサーとして働いていることが報告されている(J. Exp. Med. 180, 1763 (1994))。尚、上記MHCクラスII遺伝子は、初めには同種移植片生着の可否を支配する遺伝子として同定され、ついで個体や系の免疫応答性の差を決定する遺伝子であることが証明されており、動物の免疫システムにおいて重要な役割を果たしていることが明らかになっている。

【0015】本発明のDNA結合タンパク質の遺伝子は、cDNAをプローブとして発現解析を行ったところ、ジャスモン酸によって特異的に誘導されることが確認された。

【0016】ジャスモン酸は、二次代謝産物の生合成などさまざまな植物の反応に関与しており、多くの遺伝子の発現を制御する情報伝達物質としての機能を有している。本発明のDNA結合タンパク質は、これらのジャスモン酸で誘導される遺伝子の発現を調節する因子であると考えられる。したがって、これらの遺伝子の発現をコントロールすることが可能となり、病原菌に対する防御物質を蓄積させたり、二次代謝産物の合成量を増大、減少させたりすることできると考えられる。具体的には、本発明のDNAを植物中で発現させたり、本発明のDNAのアンチセンス遺伝子を植物中で発現させることによって、病原菌に強い植物の作出、有用な二次代謝産物の生産、有毒な二次代謝産物の生成の抑制などを行うことが可能であると期待される。

【0017】本発明により、ジャスモン酸によって誘導されるDNA結合タンパク質をコードするDNAが得られたので、この配列もしくはこの配列を基に作製したオリゴヌクレオチドをプローブに用いたハイブリダイゼーション法、あるいは前記オリゴヌクレオチドをプライマーとするPCR(ポリメラーゼ・チエイン・リアクション)法によって、植物染色体DNAから、DNA結合タ

ンパク質遺伝子を単離することができる。この遺伝子自体も、ジャスモン酸によって発現誘導されるので、該遺伝子産物のみならず、そのプロモーターも、植物体内における遺伝子発現調節に利用できる。

【0018】

【発明の実施の形態】次に、本発明の実施の形態を説明する。本発明のDNAは、塩基配列及びそれによってコードするアミノ酸配列が明らかとなったので、そのアミノ酸配列に基づいて合成し、あるいは前記塩基配列に基づいて作製した1組のオリゴヌクレオチドをプライマーとするPCR法、あるいは前記塩基配列をもとに作製したオリゴヌクレオチドをプローブとするハイブリダイゼーション法により、植物の染色体DNA、mRNA又はcDNAから単離することができる。尚、染色体DNAからPCR法による增幅によって本発明のDNA結合タンパク質の遺伝子を得た場合には、イントロンが含まれている可能性が高いが、そのような1つあるいは2以上のイントロンを内部に含むものも、本発明のDNAに含まれる。

【0019】上記の方法の中では、PCR法が好ましいが、本発明を完成するに際しては、本発明のDNAはディファレンシャルディスプレイ法(Science 257, 967 (1992))によるcDNAクローニングによって得られたものである。

【0020】本発明のDNAは、植物細胞、例えば大豆の培養細胞からジャスモン酸によって特異的に誘導されるcDNAを単離することによって得られる。具体的には、ジャスモン酸処理した培養細胞と無処理の培養細胞からRNAを抽出し、ディファレンシャルディスプレイ法(Science 257, 967 (1992))を行って、ジャスモン酸処理した培養細胞のみから得られるcDNAを単離する。すなわち、ジャスモン酸処理細胞と無処理の培養細胞から調製したRNAからcDNAを合成し、各々をゲル電気泳動し、ジャスモン酸処理細胞由来のcDNAのみに認められ、無処理の培養細胞由来のcDNAには認められないバンドをゲルから抽出することによって、ジャスモン酸によって誘導される遺伝子由来のcDNAが得られる。

【0021】上記のようにして得られたcDNAの塩基配列を決定し、コード領域全長を含んでいないと認められる場合には、得られたcDNAをプローブとするコロニーハイブリダイゼーション又はプライクハイブリダイゼーションによって、植物細胞由来のcDNAライブライマーから、ハイブリダイゼーション陽性のクローンをスクリーニングすればよい。

【0022】cDNAライブライマーは、植物組織からmRNAを抽出し、逆転写酵素を用いてcDNAを合成し、ポリメラーゼ反応によって2本鎖化したものをベクターに挿入し、大腸菌等に形質転換することにより作製することができる。cDNAクローニングキットが市販

されているのでこれらを使用してもよい。

【0023】ライブラリーの作製に用いるベクターは、多数種市販されており、これらを使用することができる。DNAの切断、連結、形質転換、遺伝子の塩基配列の決定、ハイブリダイゼーション等一般の遺伝子組換えに必要な方法は、各操作に使用する市販の酵素等に添付されている説明書や、Molecular cloning (Maniatis T. et al. Cold Spring Harbor Laboratory Press)に記載されている。

【0024】上記のようにしてハイブリダイゼーション陽性のクローンが得られたら、その塩基配列決定を行う。塩基配列の決定は、Maxam-Gilbert法あるいは、ダイデオキシ法により行う。ダイデオキシ法による塩基配列の決定は、市販されているキットを用いて行うことができ、配列決定を自動的に行うオートシークエンサーを使用してもよい。

【0025】上記のようにして得られた本発明のDNAの塩基配列を配列番号1に示す。また、この塩基配列から推定されるアミノ酸配列を、配列番号2に示す。このアミノ酸配列について、データベース解析を行ったところ、このアミノ酸配列の1～771までの部分は、ヒトのMHCクラスII遺伝子のプロモーター領域に保存されているX-boXに結合するシステインーリッチDNA結合タンパク質 (Cysteine-rich DNA-binding protein (NF-X1)) のアミノ酸配列の343～1087までの部分との間で91.7%のホモロジーがあることがわかり、DNA結合タンパク質であることが示された。尚、配列番号1において、塩基番号450～452のATGを開始コドンとしてコード領域を示してあるが、これは、このコドンが開始コドンである可能性が最も高いことを意味するものであり、上流にコード領域が続くことを完全に否定するものではない。ただし、NF-X1との相同意から、配列番号2に示すアミノ酸配列は、DNA結合タンパクとしての活性を示すのに十分であると考えられる。

【0026】上記DNA結合タンパク質の遺伝子を、S J I P-2と命名した、この遺伝子の発現様式を調べるために、ノーザン解析を行った。すなわち、ジャスモン酸処理した細胞と無処理の細胞からRNAを抽出し、アガロースゲル電気泳動を行い、ゲルからRNAをメンブランに移した。先に得られたcDNAをプローブとしてハイブリダイゼーションを行ったところ、S J I P-2は無処理の細胞では発現が見られず、ジャスモン酸処理した細胞で特異的に発現していることが明らかとなつた。したがって、上記S J I P-2は、ジャスモン酸で特異的に誘導されるDNA結合タンパク質の遺伝子であることが明らかとなつた。

【0027】本発明により、ジャスモン酸で特異的に誘導されるDNA結合タンパク質のcDNAが得られたので、この配列を用いたハイブリダイゼーションにより染

色体DNAライブラリーから、あるいはこのcDNA配列に基づいて作製したオリゴヌクレオチドをプライマーとするPCR法により、染色体DNAからS J I P-2を単離することができる。

【0028】本発明のDNA又はS J I P-2の全部あるいは一部をカリフラワーモザイクウイルス由来のプロモーターなど植物で発現可能なプロモーターと結合し、これを含む組換えDNAを植物に導入して形質転換することによって、DNA結合タンパク質を高発現する植物を作製することができる。また、本発明のDNA又はS J I P-2の全部又は一部を、逆方向にプロモーターに結合したものを植物に導入し、いわゆるアンチセンスRNAを発現させることによって、DNA結合タンパク質mRNAの翻訳を阻害し、発現量を抑制させることができる。

【0029】植物の形質転換は、パーティクルガン法、エレクトロポレーション（電気的穿孔法）あるいはアグロバクテリウムのTiプラスミドを利用する方法などによって、プロトプラストにDNAを導入することによって行うことができる。

【0030】S J I P-2のセンス又はアンチセンス遺伝子が導入されたクローンの選択は、形質転換細胞から得られたカルスあるいは植物体の細胞を採り、サザンハイブリダイゼーション等の方法で確認することにより行えればよい。また、再生後に、植物体の葉からRNAを抽出し、DNA結合タンパク質遺伝子の発現をノーザン解析等により調べる一方、S J I P-2が導入されていることをサザン解析等により確認することが好ましい。

【0031】

【実施例】以下に本発明を実施例に基づいて詳細に説明する。

＜1＞ジャスモン酸処理により特異的に発現するcDNAのディファレンシャルディスプレイ法による単離
大豆の培養細胞 (SB-P cells, Jack M. Widholm教授より提供された, Plant Physiol. 72, 426 (1983) 参照) を20μMのジャスモン酸メチルエステルおよび100μMのシクロヘキシミドで30分間処理し、デ・ノボのタンパク質合成を阻害しつつジャスモン酸で誘導されるmRNAを生成させた後、ジャスモン酸処理細胞および無処理の細胞から、以下に示すようにしてグアニジンチオシアネート (CsCl法) によりRNAを抽出した。

【0032】培養細胞それぞれ約1gづつを液体窒素中で粉砕し、それを14mlの4Mグアニジンチオシアネート、1.17mMメルカプトエタノール、25mM酢酸ナトリウム溶液中に入れ、ホリトロンホモジナイザーで完全に粉砕した。これを、13,000×gで20分間遠心したのち、上清を遠心チューブ内の1.5mlの5.7M CsCl溶液上に重層した。これを、18.2,000×gで20時間遠心した後、上清を除いた沈殿をTE緩衝液に溶かして全RNAとした。

【0033】次に、それぞれのRNAを用いて、Gene Hunter社のRNAmapキットを用いてディファレンシャルディスプレイ法を行った。PCRのプライマーは配列番号3～6に示す4種類のオリゴdTプライマー（各配列において、VはG、A、Cが混合されていることを示す）と、20種類の10マーのランダム配列を有するプライマーを組み合わせて使用した。これらのプライマーはいずれも前記キットに含まれている。

【0034】上記のRNA 0.2μgを錆型として、逆転写酵素（MMV（Moloney Murine Leukemia Virus）reverse transcriptase）を用いてcDNAを合成した後、上記のプライマーを加え、94℃ 30秒、40℃ 2分、72℃ 30秒からなる增幅反応を40サイクル行った。尚、反応液に、[³⁵S]-dTTPを加えて、增幅産物に[³⁵S]-dTTPを取り込ませた。

【0035】それぞれの反応産物を、シーケンスゲル（塩基配列決定用ゲル）を用いて電気泳動を行い、オートラジオグラムをとった後、ジャスモン酸処理に特異的に出現するバンドを調べた。ジャスモン酸処理した細胞由来のRNAから增幅され、無処理の細胞由来のRNAからは增幅されなかったDNAのバンドをゲルから切り出し、TE緩衝液中でボイリングしてゲル断片からDNAを抽出した。得られたDNAをもとに、初めの反応と同じプライマーを用いてPCRを行い、DNAを増幅した。増幅されたDNAは、pCRIIベクター（Invitrogen社製）にサブクローニングし、以後の解析に用いた。

【0036】<2>長鎖cDNAの単離

大豆の培養細胞を50μMのジャスモン酸で1時間処理し、グアニジンチオシアネート/CSCL法により全RNAを抽出した。得られた全RNAからmRNA調製キット（mRNA Purification Kit（Pharmacia社製））を用いてポリア+RNAを調製した。次いで、4μgのポリア+RNAからcDNA合成キット（cDNA Synthesis Kit（Pharmacia社製））を用いてcDNAを合成した。

【0037】得られたcDNAを、入ZAPIIベクター（Stratagene社製）に挿入し、インビトロ・パッケージングを行って入ファージによるcDNAライブラリーを作製した。

【0038】前記<1>のディファレンシャルディスプレイ法により単離した1つのクローンT6-1を³²Pで標識し、上記のcDNAライブラリー80,000plaquesをplaquesハイブリダイゼーション法によりスクリーニングして、陽性クローンを得た。ハイブリダイゼーションを60℃で16時間行った後、0.2×SSC/0.1%SDS溶液中60℃で10分間洗浄した。得られたクローンのうち最も長いクローンをT6-1-20とし、さらに解析を行った。

【0039】<3>塩基配列の決定

T6-1-20の塩基配列を、塩基配列決定キット（BacBEST Dideoxy Sequence Kit（宝酒造（株）製））を用いて

ジデオキシ法により決定したところ、このcDNAは3,528bpからなり、977アミノ酸をコードする1つのオープンリーディングフレームが見出された。そして、このcDNAがコードするアミノ酸配列についてデータベース検索を行ったところ、このアミノ酸配列の1～771までの部分と、ヒトのMHCクラスII遺伝子のプロモーター領域に保存されているX-boxに結合するシステインーリッチDNA結合タンパク質（Cystein-rich DNA-binding protein (NF-X1)）のアミノ酸配列の343～1087までの部分との間で39.7%のホモロジーがあることがわかった。

【0040】このNF-X1は、MHCクラスII遺伝子の発現を調節しているリプレッサーとして機能していることが示されており、遺伝子の中央部分にシステインに富む7回の繰り返し構造をもつ新たなファミリーであるとして報告されている。今回単離した大豆の遺伝子は、システインに富む7回の繰り返し構造を有しており（図1）、システインーリッチDNA結合タンパク質をコードしていることが示された。このcDNAが由来する遺伝子を、SJP-2とした。

【0041】<4>SJP-2の発現解析

システインーリッチDNA結合タンパク質をコードする遺伝子（SJP-2）の発現様式を調べるために、ジャスモン酸処理した大豆培養細胞と無処理の細胞からRNAを抽出し、T6-1（200bp）をプローブとしてハイブリダイゼーションを行った。

【0042】RNAの抽出は、グアニジンチオシアネート・フェノールクロロホルム法により行った。1.6mlの4.23Mグアニジンチオシアネート、25mMクエン酸ナトリウム溶液と、0.2mlの20%サルコシル溶液と、0.2mlの2-メルカプトエタノール溶液と、2mlのフェノール・クロロホルム溶液とを混合し、この混合溶液に培養細胞約1.5gを加え、培養細胞を粉砕した。これを、3,000rpmで10分間遠心を行い、上清をフェノール・クロロホルムで抽出した後、さらにクロロホルムで抽出を行った。得られた溶液にエタノールを加えてRNAを沈殿させた後、沈殿を1mlの水に溶解し、250μlの10MLIC溶液を加えて4℃で2時間以上静置した。これを遠心してRNAの沈殿を回収した。

【0043】上記のようにして得られたRNA 20μgをアガロースゲルで電気泳動した後、RNAをナイロンメンブランに移した。T6-1を³²Pで標識してプローブとし、ノーザンハイブリダイゼーションを行った。ハイブリダイゼーションを60℃で16時間行い、0.2×SSC/0.1%SDS溶液中60℃で30分間洗浄を行った後、X線フィルムを用いてオートラジオグラムをとった。

【0044】その結果、SJP-2は、ジャスモン酸無処理の細胞では発現が見られず、ジャスモン酸処理し

た細胞で特異的に発現していることが明らかとなった。したがってこのS J I P-2は、ジャスモン酸で特異的に誘導されるDNA結合タンパク質の遺伝子であることが明らかとなった。

【0045】

【発明の効果】本発明のDNAは、ジャスモン酸で誘導されるDNA結合タンパク質をコードする。このDNA結合タンパク質は、ジャスモン酸で誘導される遺伝子の発現を調節する因子であると考えられる。したがって、それらの遺伝子の発現をコントロールすることが可能となり、病原菌に強い植物の作出、有用な二次代謝産物の生産、有毒な二次代謝産物の生成の抑制などに利用することができると期待される。

【0046】

【配列表】

配列番号：1
配列の長さ：3528
配列の型：核酸
鎖の数：二本鎖
トポロジー：直鎖状
配列の種類：cDNA
起源
生物名：ダイズ
株名：SB-P
配列の特徴
特徴を表す記号：CDS
存在位置：450..3480
特徴を決定した方法：P

配列

TCACACAGCG CAACTTCGT CTTCTATCCC CAACCTAAC CAGGTATCAT CTTCTATCT	60
TTCCCTAAATT TCAGTCAGTC AGAATAATTG TCACTTAATT TGGAAATTTC ATTTCGAGAG	120
TTGAGACTTA GACATGTTAA TTGACTTTT AGGGTTGAGG TTATCATCAA TCTTCCATT	180
TTCAATCTGA TGAATTGGAT TTGAATTTC ATGTGTCAGT TAGCGAACGA TCGATTAGAG	240
TTTCGACCGA GGATGAGTTC GAAAGAGCGA AGCAGCAGCC GCATTGAGG GTTCTCGTC	300
GTCAGGAGTG GATTCGAGA GATGTTGGTG GTTGCTCCAA TCCAAGAAAG CCCAAGAAGG	360
GATCATCTTC GAATTCGAGG GAGGAGTCTA ATTTGCCTCA GCTGCTGCAA GAGATTCAAGG	420
ACAAGCTCGT CAAAGGAGCT GTCGAATGC ATG ATT TGT TAT GAC ATG GTG CGC	473
Met Ile Cys Tyr Asp Met Val Arg	
1 5	
AGG TCT GCG CCT ATC TGG TCT TGC TCC GGT TGC TTC TCT ATC TTT CAC	521
Arg Ser Ala Pro Ile Trp Ser Cys Ser Gly Cys Phe Ser Ile Phe His	
10 15 20	
CTC ACT TGT ATC AAG AAG TGG GCT CGT GCA CCC ATT TCT GTG GAT TTG	569
Leu Thr Cys Ile Lys Lys Trp Ala Arg Ala Pro Ile Ser Val Asp Leu	
25 30 35 40	
TCC GTT GAG AAG AAC CAG GGC GGC TTC AAT TGG CGT TGC CCT GGT TGC	617
Ser Val Glu Lys Asn Gln Gly Gly Phe Asn Trp Arg Cys Pro Gly Cys	
45 50 55	
CAG TCT GTG CAG CTC ACT TCA TCC AAG GAT ATT AGG TAT CTA TGC TTC	665
Gln Ser Val Gln Leu Thr Ser Ser Lys Asp Ile Arg Tyr Leu Cys Phe	
60 65 70	
TGT GGA AAG AGG CCA GAT CCA CCC TCT GAT TTG TAT CTC ATG CCA CAT	713
Cys Gly Lys Arg Pro Asp Pro Ser Asp Leu Tyr Leu Met Pro His	
75 80 85	
TCC TGT GGA GAA CCA TGT GGC AAG CCT CTT GAG AGG GAC CTT CAA GGG	761
Ser Cys Gly Glu Pro Cys Gly Lys Pro Leu Glu Arg Asp Leu Gln Gly	
90 95 100	
GAT AAG GAG CTT CTT TGC CCT CAT CTT TGT GTC TTG CAA TGC CAT CCC	809
Asp Lys Glu Leu Leu Cys Pro His Leu Cys Val Leu Gln Cys His Pro	
105 110 115 120	
GGC CCC TGT CCT CCT TGC AAA GCA TTT GCC CCT CCA CGT CTG TGT CCT	857
Gly Pro Cys Pro Pro Cys Lys Ala Phe Ala Pro Pro Arg Leu Cys Pro	
125 130 135	
TGT GGG AAG AAA AAT ATT ACC ACT CGT TGC TCT GAC CGC CAG TCT GTT	905

Cys	Gly	Lys	Lys	Asn	Ile	Thr	Thr	Arg	Cys	Ser	Asp	Arg	Gln	Ser	Val	
140							145						150			
CTT	ACC	TGT	GGC	CAG	CGC	TGC	CAA	AAG	CTT	CTT	CAA	TGT	GGC	CGT	CAT	953
Leu	Thr	Cys	Gly	Gln	Arg	Cys	Gln	Lys	Leu	Leu	Gln	Cys	Gly	Arg	His	
155							160					165				
CGC	TGT	CAG	CAA	ATC	TGT	CAT	CTG	GGT	CCT	TGT	CAT	CCT	TGT	CAA	GTT	1001
Arg	Cys	Gln	Gln	Ile	Cys	His	Leu	Gly	Pro	Cys	His	Pro	Cys	Gln	Val	
170							175					180				
CCA	ATC	AAT	GCC	TCT	TGC	TTT	TGT	GGC	CAA	AAG	ATG	GAG	GTA	ATT	CTT	1049
Pro	Ile	Asn	Ala	Ser	Cys	Phe	Cys	Ala	Gln	Lys	Met	Glu	Val	Ile	Leu	
185						190			195			200				
TGT	GGG	GAG	ATG	GCT	GTC	AAG	GGT	GAA	ATC	AGA	GCA	GAT	GGT	GGA	GTA	1097
Cys	Gly	Glu	Met	Ala	Val	Lys	Gly	Glu	Ile	Arg	Ala	Asp	Gly	Gly	Val	
205						210			215							
TTC	TCT	TGT	GGT	TCC	ACT	TGT	CAA	AAG	AAA	CTT	AAT	TGT	GGT	AAT	CAT	1145
Phe	Ser	Cys	Gly	Ser	Thr	Cys	Gln	Lys	Lys	Leu	Asn	Cys	Gly	Asn	His	
220						225			230							
ATC	TGT	ATC	GAG	ACT	TGT	CAT	CCA	GGT	AGC	TGT	GGG	GAC	TGT	GAA	TTA	1193
Ile	Cys	Ile	Glu	Thr	Cys	His	Pro	Gly	Ser	Cys	Gly	Asp	Cys	Glu	Leu	
235						240			245							
TTA	CCA	TCC	CGT	ATT	AAG	ACA	TGC	TGT	TGT	GGG	AAA	ACT	AGA	TTG	GAG	1241
Leu	Pro	Ser	Arg	Ile	Lys	Thr	Cys	Cys	Cys	Gly	Lys	Thr	Arg	Leu	Glu	
250						255			260							
GAG	AAA	CGC	CAC	AGT	TGT	TTA	GAC	CCA	ATT	CCT	ACC	TGT	TCA	CAA	GTA	1289
Glu	Lys	Arg	His	Ser	Cys	Leu	Asp	Pro	Ile	Pro	Thr	Cys	Ser	Gln	Val	
265						270			275			280				
TGT	GGC	AAG	TAC	CTT	CCT	TGC	GGG	ATT	CAT	CAT	TGT	GAA	GAG	CCA	TGC	1337
Cys	Gly	Lys	Tyr	Leu	Pro	Cys	Gly	Ile	His	His	Cys	Glu	Glu	Pro	Cys	
285						290			295							
CAT	GCT	GGG	GAT	TGT	TCT	CCT	TGT	CTG	GTT	CTA	GTT	TCT	CAG	AAG	TGT	1385
His	Ala	Gly	Asp	Cys	Ser	Pro	Cys	Leu	Val	Leu	Val	Ser	Gln	Lys	Cys	
300						305			310							
AGA	TGT	GGC	TCG	ACT	TCC	CGA	ACT	GTG	GAG	TGT	TGC	AAG	ACA	AAA	ATG	1433
Arg	Cys	Gly	Ser	Thr	Ser	Arg	Thr	Val	Glu	Cys	Cys	Lys	Thr	Lys	Met	
315						320			325							
GAA	AAT	GAG	AAA	TTT	ACT	TGT	GAA	AGG	CCT	TGT	GGG	CAG	AAA	AAG	AAT	1481
Glu	Asn	Glu	Lys	Phe	Thr	Cys	Glu	Arg	Pro	Cys	Gly	Gln	Lys	Lys	Asn	
330						335			340							
TGT	GGA	AGG	CAT	CGA	TGT	AGT	GAA	AGG	TGT	TGT	CCA	CTT	TCT	AAT	CCA	1529
Cys	Gly	Arg	His	Arg	Cys	Ser	Glu	Arg	Cys	Cys	Pro	Leu	Ser	Asn	Pro	
345						350			355			360				
AAT	AAT	ATT	CTA	AAT	GCA	GAT	TGG	GAT	CCA	CAC	TTC	TGT	CAA	TTG	CCG	1577
Asn	Asn	Ile	Leu	Asn	Ala	Asp	Trp	Asp	Pro	His	Phe	Cys	Gln	Leu	Pro	
365						370			375							
TGT	GGA	AAG	AAG	TTA	AGG	TGT	GGG	CAG	CAT	GCA	TGT	GAA	TCC	CTG	TGC	1625
Cys	Gly	Lys	Lys	Leu	Arg	Cys	Gly	Gln	His	Ala	Cys	Glu	Ser	Leu	Cys	
380						385			390							
CAC	AGT	GGT	CAT	TGT	CCA	CCT	TGT	CTT	GAA	ACT	ATA	TTT	ACT	GAT	TTG	1673
His	Ser	Gly	His	Cys	Pro	Pro	Cys	Leu	Glu	Thr	Ile	Phe	Thr	Asp	Leu	
395						400			405							

ACA TGT GCT TGT GGT AAG ACT TCA ATC CCT CCT CCA TTG CCT TGT GGC	1721
Thr Cys Ala Cys Gly Lys Thr Ser Ile Pro Pro Pro Leu Pro Cys Gly	
410 415 420	
ACA CCG CCT CCC TCA TGT CAG CTT CCA TGT TCA GTT CCT CAG CCT TGT	1769
Thr Pro Pro Pro Ser Cys Gln Leu Pro Cys Ser Val Pro Gln Pro Cys	
425 430 435 440	
TCG CAT CCA GCC TCT CAC AGC TGT CAT TTT GGA GAT TGC CCT CCT TGT	1817
Ser His Pro Ala Ser His Ser Cys His Phe Gly Asp Cys Pro Pro Cys	
445 450 455	
TCA ATG CCC ATA GCA AAA GAA TGT ATT GGT GGA CAT GTA GTT CTT AGG	1865
Ser Met Pro Ile Ala Lys Glu Cys Ile Gly Gly His Val Val Leu Arg	
460 465 470	
AAC ATA CCT TGT GGT TCG AAG GAT ATT AAA TGC AAT AAA CTC TGT GGG	1913
Asn Ile Pro Cys Gly Ser Lys Asp Ile Lys Cys Asn Lys Leu Cys Gly	
475 480 485	
AAG ACC AGA CAG TGT GGT TTA CAT GCA TGT GGC AGA ACA TGT CAC CTC	1961
Lys Thr Arg Gln Cys Gly Leu His Ala Cys Gly Arg Thr Cys His Leu	
490 495 500	
CCC CCT TGT GAT AAT CTG TCA GCT GTG CCA GGT ATC CGA GCC TCT TGT	2009
Pro Pro Cys Asp Asn Leu Ser Ala Val Pro Gly Ile Arg Ala Ser Cys	
505 510 515 520	
GGG CAA ACA TGT GGT GCT CCT AGG AGA GAC TGC CGG CAT ACA TGT ACA	2057
Gly Gln Thr Cys Gly Ala Pro Arg Arg Asp Cys Arg His Thr Cys Thr	
525 530 535	
GCT CCT TGT CAC CCT TCA ACT CCA TGT CCA GAT ACA AGA TGC AAA TTC	2105
Ala Pro Cys His Pro Ser Thr Pro Cys Pro Asp Thr Arg Cys Lys Phe	
540 545 550	
CCT GTC ACA ATT ACT TGT TCT TGT GGC CGA ATA ACA GAA AAT GTT CCT	2153
Pro Val Thr Ile Thr Cys Ser Cys Gly Arg Ile Thr Glu Asn Val Pro	
555 560 565	
TGT GAT GCT GGT GGC AGT TGT GCT AAT TAT GAT GCT GAT ACT GTA CAT	2201
Cys Asp Ala Gly Gly Ser Cys Ala Asn Tyr Asp Ala Asp Thr Val His	
570 575 580	
GAA GCT TCC ATT ATT CAA AAG TTG CCT GTG CTT CAA CCC GTG GCT	2249
Glu Ala Ser Ile Ile Gln Lys Leu Pro Val Leu Leu Gln Pro Val Ala	
585 590 595 600	
GCA AAT GGC AAA AAA GTC CCC CTC GGA CAA AGA AAA CTG ATG TGT AAT	2297
Ala Asn Gly Lys Val Pro Leu Gly Gln Arg Lys Leu Met Cys Asn	
605 610 615	
GAT GAC TGT GCT AAG TTA GAG CGG AAA AGG GTT CTT GCA GAT GCT TTT	2345
Asp Asp Cys Ala Lys Leu Glu Arg Lys Arg Val Leu Ala Asp Ala Phe	
620 625 630	
GAG ATT ACC GCT CCA AAT CTG GAT TCA CTC CAT TTT GGT GAG AAT TCG	2393
Glu Ile Thr Ala Pro Asn Leu Asp Ser Leu His Phe Gly Glu Asn Ser	
635 640 645	
GTT GCT TCT GAA TTG CTG GCT GAC ATG TTG AGA CGT GAT TCT AAA TGG	2441
Val Ala Ser Glu Leu Leu Ala Asp Met Leu Arg Arg Asp Ser Lys Trp	
650 655 660	
GTT TTA TCT GTT GAA GAG AGA TGC AAG TTT TTA GTA CTT GGC AAG AGC	2489
Val Leu Ser Val Glu Glu Arg Cys Lys Phe Leu Val Leu Gly Lys Ser	

665	670	675	680	
AGA GGA AAT GCA CAT GGT CCA AAA GTC CAT GTT TTC TGT CCT ATG TTA				2537
Arg Gly Asn Ala His Gly Pro Lys Val His Val Phe Cys Pro Met Leu				
685	690	695		
AAG GAC AAA AGA GAT GCA GTG AGG GTG ATT GCT GAG AGA TGG AAG CTT				2585
Lys Asp Lys Arg Asp Ala Val Arg Val Ile Ala Glu Arg Trp Lys Leu				
700	705	710		
GCA GTG AAT GCA GCT GGT CGG GAG CCA AAG CAT TTC GTA GTT GTT CAT				2633
Ala Val Asn Ala Ala Gly Arg Glu Pro Lys His Phe Val Val Val His				
715	720	725		
GTT ACA CCA AAA TCA AGA GCT CCT GCT CGT GTG CTA GGG TTT AAG GGT				2681
Val Thr Pro Lys Ser Arg Ala Pro Ala Arg Val Leu Gly Phe Lys Gly				
730	735	740		
ACT ACA ACT GTA AAT GTA CCC CTT CCT CCG GCA TTT GAT CCT TTG GTT				2729
Thr Thr Thr Val Asn Val Pro Leu Pro Pro Ala Phe Asp Pro Leu Val				
745	750	755	760	
GAT ATG GAT CCT CGA CTT GTT GTC TCT TTT ATA GAC TTA CCA ATG GAT				2777
Asp Met Asp Pro Arg Leu Val Val Ser Phe Ile Asp Leu Pro Met Asp				
765	770	775		
GCA GAT ATT AGT GCA TTG GTG TTG AGA TTT GGT GGT GAG TGT GAA CTT				2825
Ala Asp Ile Ser Ala Leu Val Leu Arg Phe Gly Gly Glu Cys Glu Leu				
780	785	790		
GTT TGG TTA AAT GAC AAA AAT GCA TTG GCC GTT TTT AAT GAC CCT GCC				2873
Val Trp Leu Asn Asp Lys Asn Ala Leu Ala Val Phe Asn Asp Pro Ala				
795	800	805		
CGT GCT GCA ACT GCA ATG AGG AGG TTG GAT CAT GGT ACG GTT TAT CAG				2921
Arg Ala Ala Thr Ala Met Arg Arg Leu Asp His Gly Thr Val Tyr Gln				
810	815	820		
GGA GCT GTG GTG GTG GTT CCA AAT GTC GGG GCA TCA GTA GCA TCT				2969
Gly Ala Val Val Val Val Pro Asn Val Gly Ala Ser Val Ala Ser				
825	830	835	840	
TCA GCT ACC AAT GCC TGG GGA GGA TCT GGG ACA ATG AAA GGA GGA GCA				3017
Ser Ala Thr Asn Ala Trp Gly Gly Ser Gly Thr Met Lys Gly Gly Ala				
845	850	855		
CTG GCA GCA TTA AAG AGT AAT CCA TGG AAA AAG GAT GTT ATT CAA GAG				3065
Leu Ala Ala Leu Lys Ser Asn Pro Trp Lys Lys Asp Val Ile Gln Glu				
860	865	870		
CCA GGT TGG AGA GAA GAT GCT TGG GGT GAT GAG GAG TGG GCT ACT GGT				3113
Pro Gly Trp Arg Glu Asp Ala Trp Gly Asp Glu Glu Trp Ala Thr Gly				
875	880	885		
TCT GCT AAT GTC AAA TTG CCT ATT CAG AAG AAA GAA GCC CGA ATA TCT				3161
Ser Ala Asn Val Lys Leu Pro Ile Gln Lys Lys Glu Ala Arg Ile Ser				
890	895	900		
GCT TCA GTA AAT CCT TGG AGT GTC CTA AAT CAA GAA TCG TCT TCA AGT				3209
Ala Ser Val Asn Pro Trp Ser Val Leu Asn Gln Glu Ser Ser Ser Ser				
905	910	915	920	
TCA TCT GTT GCA GCC ATT AAA ATT GAT GGT TCT AGG AAA CAC TCT GAA				3257
Ser Ser Val Ala Ala Ile Lys Ile Asp Gly Ser Arg Lys His Ser Glu				
925	930	935		
AGT AGT GTT ATC ACA AAG TTG GAG CCT CGT GAT GGT GGT TCA AAT CTA				3305

Ser Ser Val Ile Thr Lys Leu Glu Pro Arg Asp Gly Gly Ser Asn Leu		
940	945	950
GGA GGG CAG CCT GCA GGA AAC TTT GAT GCT TTG GAA GCT TCT GAT GTA		3353
Gly Gly Gln Pro Ala Gly Asn Phe Asp Ala Leu Glu Ala Ser Asp Val		
955	960	965
GTA GAT GAT TGG GAG AAG GCT TGT GAA TAGCAAGGAG TAAACATTTT		3400
Val Asp Asp Trp Glu Lys Ala Cys Glu		
970	975	
TCATTTATT TTGTTGAGAA GGAGGCAGAT TTTGACTAGT GAAATGTCTA AGGCTCTTT		3460
TGTCCACTAG ATGTATCTCT TTTCATGTTT TATCCCCCTG ATTTAAATCA ATTCGATGT		3520
TATTCTAA		3528

【 0 0 4 7 】配列番号 : 2

トポロジー : 直鎖状

配列の長さ : 977

配列の種類 : タンパク質

配列の型 : アミノ酸

配列

Met Ile Cys Tyr Asp Met Val Arg Arg Ser Ala Pro Ile Trp Ser Cys			
1	5	10	15
Ser Gly Cys Phe Ser Ile Phe His Leu Thr Cys Ile Lys Lys Trp Ala			
20	25	30	
Arg Ala Pro Ile Ser Val Asp Leu Ser Val Glu Lys Asn Gln Gly Gly			
35	40	45	
Phe Asn Trp Arg Cys Pro Gly Cys Gln Ser Val Gln Leu Thr Ser Ser			
50	55	60	
Lys Asp Ile Arg Tyr Leu Cys Phe Cys Gly Lys Arg Pro Asp Pro Pro			
65	70	75	80
Ser Asp Leu Tyr Leu Met Pro His Ser Cys Gly Glu Pro Cys Gly Lys			
85	90	95	
Pro Leu Glu Arg Asp Leu Gln Gly Asp Lys Glu Leu Leu Cys Pro His			
100	105	110	
Leu Cys Val Leu Gln Cys His Pro Gly Pro Cys Pro Pro Cys Lys Ala			
115	120	125	
Phe Ala Pro Pro Arg Leu Cys Pro Cys Gly Lys Asn Ile Thr Thr			
130	135	140	
Arg Cys Ser Asp Arg Gln Ser Val Leu Thr Cys Gly Gln Arg Cys Gln			
145	150	155	160
Lys Leu Leu Gln Cys Gly Arg His Arg Cys Gln Gln Ile Cys His Leu			
165	170	175	
Gly Pro Cys His Pro Cys Gln Val Pro Ile Asn Ala Ser Cys Phe Cys			
180	185	190	
Ala Gln Lys Met Glu Val Ile Leu Cys Gly Glu Met Ala Val Lys Gly			
195	200	205	
Glu Ile Arg Ala Asp Gly Gly Val Phe Ser Cys Gly Ser Thr Cys Gln			
210	215	220	
Lys Lys Leu Asn Cys Gly Asn His Ile Cys Ile Glu Thr Cys His Pro			
225	230	235	240
Gly Ser Cys Gly Asp Cys Glu Leu Leu Pro Ser Arg Ile Lys Thr Cys			
245	250	255	
Cys Cys Gly Lys Thr Arg Leu Glu Glu Lys Arg His Ser Cys Leu Asp			
260	265	270	
Pro Ile Pro Thr Cys Ser Gln Val Cys Gly Lys Tyr Leu Pro Cys Gly			

275	280	285
Ile His His Cys Glu Glu Pro Cys His Ala Gly Asp Cys Ser Pro Cys		
290	295	300
Leu Val Leu Val Ser Gln Lys Cys Arg Cys Gly Ser Thr Ser Arg Thr		
305	310	315
Val Glu Cys Cys Lys Thr Lys Met Glu Asn Glu Lys Phe Thr Cys Glu		
325	330	335
Arg Pro Cys Gly Gln Lys Lys Asn Cys Gly Arg His Arg Cys Ser Glu		
340	345	350
Arg Cys Cys Pro Leu Ser Asn Pro Asn Asn Ile Leu Asn Ala Asp Trp		
355	360	365
Asp Pro His Phe Cys Gln Leu Pro Cys Gly Lys Leu Arg Cys Gly		
370	375	380
Gln His Ala Cys Glu Ser Leu Cys His Ser Gly His Cys Pro Pro Cys		
385	390	395
Leu Glu Thr Ile Phe Thr Asp Leu Thr Cys Ala Cys Gly Lys Thr Ser		
405	410	415
Ile Pro Pro Pro Leu Pro Cys Gly Thr Pro Pro Pro Ser Cys Gln Leu		
420	425	430
Pro Cys Ser Val Pro Gln Pro Cys Ser His Pro Ala Ser His Ser Cys		
435	440	445
His Phe Gly Asp Cys Pro Pro Cys Ser Met Pro Ile Ala Lys Glu Cys		
450	455	460
Ile Gly Gly His Val Val Leu Arg Asn Ile Pro Cys Gly Ser Lys Asp		
465	470	475
Ile Lys Cys Asn Lys Leu Cys Gly Lys Thr Arg Gln Cys Gly Leu His		
485	490	495
Ala Cys Gly Arg Thr Cys His Leu Pro Pro Cys Asp Asn Leu Ser Ala		
500	505	510
Val Pro Gly Ile Arg Ala Ser Cys Gly Gln Thr Cys Gly Ala Pro Arg		
515	520	525
Arg Asp Cys Arg His Thr Cys Thr Ala Pro Cys His Pro Ser Thr Pro		
530	535	540
Cys Pro Asp Thr Arg Cys Lys Phe Pro Val Thr Ile Thr Cys Ser Cys		
545	550	555
560	570	575
Asn Tyr Asp Ala Asp Thr Val His Glu Ala Ser Ile Ile Gln Lys Leu		
580	585	590
Pro Val Leu Leu Gln Pro Val Ala Ala Asn Gly Lys Lys Val Pro Leu		
595	600	605
Gly Gln Arg Lys Leu Met Cys Asn Asp Asp Cys Ala Lys Leu Glu Arg		
610	615	620
Lys Arg Val Leu Ala Asp Ala Phe Glu Ile Thr Ala Pro Asn Leu Asp		
625	630	635
Ser Leu His Phe Gly Glu Asn Ser Val Ala Ser Glu Leu Leu Ala Asp		
645	650	655
Met Leu Arg Arg Asp Ser Lys Trp Val Leu Ser Val Glu Glu Arg Cys		
660	665	670
Lys Phe Leu Val Leu Gly Lys Ser Arg Gly Asn Ala His Gly Pro Lys		
675	680	685

Val His Val Phe Cys Pro Met Leu Lys Asp Lys Arg Asp Ala Val Arg
 690 695 700
 Val Ile Ala Glu Arg Trp Lys Leu Ala Val Asn Ala Ala Gly Arg Glu
 705 710 715 720
 Pro Lys His Phe Val Val Val His Val Thr Pro Lys Ser Arg Ala Pro
 725 730 735
 Ala Arg Val Leu Gly Phe Lys Gly Thr Thr Thr Val Asn Val Pro Leu
 740 745 750
 Pro Pro Ala Phe Asp Pro Leu Val Asp Met Asp Pro Arg Leu Val Val
 755 760 765
 Ser Phe Ile Asp Leu Pro Met Asp Ala Asp Ile Ser Ala Leu Val Leu
 770 775 780
 Arg Phe Gly Gly Glu Cys Glu Leu Val Trp Leu Asn Asp Lys Asn Ala
 785 790 795 800
 Leu Ala Val Phe Asn Asp Pro Ala Arg Ala Ala Thr Ala Met Arg Arg
 805 810 815
 Leu Asp His Gly Thr Val Tyr Gln Gly Ala Val Val Val Val Val Pro
 820 825 830
 Asn Val Gly Ala Ser Val Ala Ser Ser Ala Thr Asn Ala Trp Gly Gly
 835 840 845
 Ser Gly Thr Met Lys Gly Gly Ala Leu Ala Ala Leu Lys Ser Asn Pro
 850 855 860
 Trp Lys Lys Asp Val Ile Gln Glu Pro Gly Trp Arg Glu Asp Ala Trp
 865 870 875 880
 Gly Asp Glu Glu Trp Ala Thr Gly Ser Ala Asn Val Lys Leu Pro Ile
 885 890 895
 Gln Lys Lys Glu Ala Arg Ile Ser Ala Ser Val Asn Pro Trp Ser Val
 900 905 910
 Leu Asn Gln Glu Ser Ser Ser Ser Val Ala Ala Ile Lys Ile
 915 920 925
 Asp Gly Ser Arg Lys His Ser Glu Ser Ser Val Ile Thr Lys Leu Glu
 930 935 940
 Pro Arg Asp Gly Gly Ser Asn Leu Gly Gly Gln Pro Ala Gly Asn Phe
 945 950 955 960
 Asp Ala Leu Glu Ala Ser Asp Val Val Asp Asp Trp Glu Lys Ala Cys
 965 970 975
 Glu

【0048】配列番号：3

配列の長さ：14

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他のDNA.. 合成DNA

配列

TTTTTTTTTT TTVG 14

【0049】配列番号：4

配列の長さ：14

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他のDNA.. 合成DNA

配列

TTTTTTTTTT TTVA 14

【0050】配列番号：5

配列の長さ：14

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他のDNA.. 合成DNA

配列

TTTTTTTTTT TTVT 14

【0051】配列番号：6

配列の長さ：14

配列の型: 核酸

鎖の数: 一本鎖

トポロジー: 直鎖状

配列の種類: 他のDNA... 合成DNA

配列

TTTTTTTTTT TTVC 14

【0052】

【図面の簡単な説明】

【図1】 本発明のDNA結合タンパク質をコードするcDNA (NF-X1) が有するシステインに富む7回の繰り返し構造を示す図。各段の左右の数字はN-末端からのアミノ酸番号を表す。

【図1】

110	C-PHLCVILQCHPGPCPPCKAFAPPRLCPC	137
155	CGQRCQKLLQCGRHRCCQQICHLGPCCHPCQVPINASCFC	192
219	CGSTCQKYLNCGNHICIECHPGSCGDCELLPSRIKTC	256
277	CSQVCGKYLPCGHHCEEPCHAGDCSPCCLVLSOKCRC	314
373	CQLPQGKKLRCGGHACESLCHSGHCPPLCLETIFTDLTC	410
483	CNKLCGKTRQCGHLACGRTCHLPPCDNLSAVPGIRASC	520
531	C-RHTCTAPCH	540

フロントページの続き

(51) Int. Cl. 5	識別記号	府内整理番号	F I	技術表示箇所
C 12 Q 1/68			C 12 N 5/00	C

(72) 発明者 太田 啓之
 神奈川県横浜市緑区長津田4259 東京工業
 大学生命理工学部内